

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIDAD DE POSGRADO

**“ESTRUCTURA QUÍMICA DEL EXTRACTO ACUOSO Y
ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE Tagetes elliptica Sm.
“Chincho”, ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y
ANTIFÚNGICA EN LA APLICACIÓN DE UN ALIMENTO
ANDINO.”**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magister en Ciencia de los Alimentos

AUTOR

Julio Luis Díaz Uribe

ASESOR

Américo Jorge Castro Luna

Lima – Perú

2014

DEDICATORIA

A mi familia: Julia, Cristian y Luis por su apoyo en la ejecución del presente trabajo,

A mi madre Julia y a la memoria de mi padre Germán

A todas las personas que me apoyaron para culminar el presente trabajo

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Américo Castro Luna por su apoyo y asesoría en el presente trabajo

A la Dras. Norma Ramos Cevallos y María Elena Salazar por su apoyo y recomendaciones en el presente trabajo

A la Dra. Jenny León por su valioso apoyo en la ejecución del presente trabajo

A todos los miembros del Jurado Examinador y Calificador:

Dr. Pablo Bonilla Rivera

Dr. Américo Castro Luna

Dra. Ana María Muñoz Jáuregui

Mg. María Elena Salazar Salvatierra

Mg. Julio Ruiz Quiroz

ÍNDICE

RESUMEN

SUMMARY

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Planteamiento del Problema	
1.1.1 Antecedentes.....	2
1.1.2 En el ámbito Internacional	2
1.1.3 En el ámbito nacional.....	3
1.2 Problema	
1.2.1 Problema General.....	4
1.2.2 Problemas específicos.....	4
1.3 Objetivos	
1.3.1 Objetivo general.....	5
1.3.2 Objetivos específicos.....	5
1.4 Justificación	
1.4.1 Justificación teórica.....	5
1.4.2 Justificación práctica.....	5
1.4.3 Justificación metodológica.....	5
1.4.4 Justificación económica.....	5
1.5 Alcances y limitaciones	
1.5.1 Alcances.....	6
1.5.2 Limitaciones.....	6
1.6 Variables	
1.6.1 Variable dependiente.....	6
1.6.2 Variable independiente.....	6
II. MARCO TEÓRICO.....	7
2.1 Teorías generales.....	7

2.1.1	Clasificación sistemática.....	7
2.1.2	Descripción botánica.....	7
2.1.3	Antecedentes etnofarmacológicos.....	7
2.2	Actividad antibacteriana.....	8
2.3	Estudio Fitoquímico.....	8
2.4	Composición química.....	8
2.5	Actividad antibacteriana y antifúngica.....	8
2.6	Alimento andino.....	9
2.7	Hipótesis.....	10
III.	PARTE EXPERIMENTAL.....	11
3.1	Materiales y Métodos.....	11
3.1.1	Materiales.....	11
3.1.2	Reactivos.....	11
3.1.3	Material biológico.....	12
3.1.4	Equipos.....	12
3.2	Entidades donde se desarrolló la investigación.....	12
3.3	Tipo de investigación.....	13
3.4	Diseño del trabajo experimental.....	13
3.4.1	Colecta de la especie vegetal.....	14
3.4.2	Clasificación taxonómica.....	14
3.4.3	Estabilización de la muestra.....	14
3.4.4	Evaluación fitoquímica preliminar.....	14
3.4.5	Obtención del extracto acuoso	14
3.4.6	Obtención del extracto etanólico.....	14
3.5	Composición química del extracto acuoso.....	15
3.6	Determinación de la actividad antibacteriana y antifúngica del extracto etanólico <i>in vitro</i>	15
3.7	Aplicación de las hojas <i>Tagetes elliptica</i> Sm. en un alimento andino...	16

IV. RESULTADOS	18
4.1 Ensayo de solubilidad del extracto etanólico.....	18
4.2 Ensayo fitoquímico	18
4.3 Elucidación química por CG/EM.....	19
4.2 Determinación de la actividad antibacteriana y antifúngica <i>in vitro</i>	22
4.3 Cepas utilizadas.....	23
4.4 Características del aroma y sabor del alimento andino.....	26
V. DISCUSIÓN	28
VI. CONCLUSIONES	31
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
VIII. ANEXOS.....	37

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar la composición química del extracto acuoso y etanólico de las hojas frescas de *Tagetes elliptica* Sm. “chincho” y determinar su actividad antibacteriana, antifúngica *in vitro* y su aplicación en un alimento andino. La especie vegetal fue obtenida en el centro poblado de Molinos de la provincia de Jauja de la Región Junín. El extracto etanólico se obtuvo por maceración con etanol de 96° y la determinación de la composición química se realizó por el método de Cromatografía de Gases/Espectrómetría de Masas (CG/EM), determinándose los siguientes componentes químicos: dianhidrodulcitol, ceanothine c, resorcinol, pirocatecol, 2-(2-butilil)ciclohexanona, z, z-6,24-tritricontadien-2-ona y 5-hexil-2,4-dimetiloxazol. Se evaluó la actividad antibacteriana y antifúngica *in vitro* del extracto acuoso demostrándose que no tiene actividad antibacteriana frente a las bacterias: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en ninguna de las concentraciones ensayadas de 100, 50 y 25 mg/mL respectivamente. El extracto etanólico de *Tagetes elliptica* Sm. “chincho” mostró actividad frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25933 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, en las tres concentraciones trabajadas, pero no presenta actividad contra *Bacillus subtilis* ATCC 6633 y *Escherichia coli* ATCC 25922. La actividad mostrada frente a *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* no es significativa, ya que a la concentración de 25 mg/mL, el halo de inhibición presentado fue menor de 18 mm. La actividad antifúngica del extracto etanólico frente a *Candida albicans* ATCC 10231 fue inactivo. El extracto acuoso y etanólico de *Tagetes elliptica* Smith, debe su fragancia a la composición química que posee su aceite esencial y ejerce actividad antibacteriana debido al resorcinol y pirocatecol; compuestos fenólicos a los que se les atribuiría la actividad antibacteriana, predominando su aroma y sabor en el alimento integrado en el potaje andino denominado pachamanca.

Palabras clave. *Tagetes elliptica* Smith, “chincho”, pachamanca, antibacteriana, antifúngica.

SUMMARY

The objective of the study was to evaluate the composition chemistry of aqueous and alcoholic extract and fresh leaves of *Tagetes elliptica* Sm. ethanolic "chincho" and determine the antibacterial and antifungal activity in vitro and its application in an andean food. The plant species was obtained in the town of mills in the province of Jauja in the Region Junín. The summary was obtained by the method of maceration with ethanol of 96°. The chemical composition is determined by the Mass Spectrometer/gas Chromatograph (GC /MS). The determination of the antibacterial and antifungal activity was determined by the method of diffusion in agar, against the strains of the following microorganisms: *Staphylococcus aureus* ATCC 25933, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 , *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; also against the yeast *Candida albicans* ATCC 10231. With the aqueous extract was its application in an andean food. The analysis GC/MS determined the following chemical components: dianthydrodulcitol, ceanothine c, resorcinol, pirocatecol, 2-(2-butynyl)cyclohexanone, -, z, z-6, 24-tritriacontadien-2one, and 5-hexyl-2,4-dimethyl oxazole, Evaluation of antimicrobial and antifungal activity in vitro of the aqueous extract not showed antibacterial activity against *S.aureus*, *B.subtillis*, *E.coli* and *P.aeruginosa* at any of the concentrations tested of 100, 50 and 25 mg/mL respectively. *Ethanolic* extract of *Tagetes elliptica* Sm. "chincho" showed activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25933, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 worked three concentrations and not having any activity against *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. The activity shown against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* is not significant, since the concentration of 25 mg/mL, the zone of inhibition presented wasn't more than 18 mm. The antifungal activity of ethanolic and aqueous extract was inactive, the aqueous extract and *Tagetes elliptica* Sm, ethanolic should its fragrance chemical composition which has its essential oil and antimicrobial activity because of resorcinol and pirocatecol; phenolic compounds that it would endow them antimicrobial activity, dominate aroma and flavor in the andean food integrated into the Andean stew called pachamanca.

Key words. *Tagetes elliptica* Smith, pachamanca, Antibacterial, antifungal.

I. INTRODUCCIÓN

A través del tiempo las plantas en la medicina tradicional se presentan como una alternativa tanto para la medicina convencional, como para la alimentación, destacándose el uso de sus hojas, tallos, frutos y raíces, para obtener a partir de ellos efectos farmacológicos, y metabolitos secundarios activos mediante extractos etanólicos, acuosos, destilación o cocciones, avivando el interés de los investigadores en la elucidación química, farmacológica y alimentaria para el bienestar de la población.¹

Tagetes elliptica Sm “Chincho”, es una especie vegetal de la Familia Asteraceae y del género *Tagetes*, caracterizada por su uso popular como un ingrediente principal en la pachamanca, utilizado desde tiempos muy antiguos en la preparación de este potaje integrando alimentos andinos como la oca, papa, habas, maíz (choclo), heredados de nuestra ancestral cultura Inca, cuyo significado de la pachamanca es “comida de la tierra”, “olla de tierra”, difundida en sus diferentes variedades en las regiones del Perú, sin perder su originalidad.¹

Tagetes elliptica Sm “Chincho”, es una planta nativa del Perú y de América, siendo utilizada por su aroma característico debido a su aceite volátil contenido en sus hojas, tallos y capacidad de conservación, evitando el deterioro del alimento. Las mujeres que residen en las zonas andinas usan esta especie vegetal como paliativo en las dismenorreas, en afecciones estomacales entre otros.²

El trabajo de investigación, tuvo como objetivo obtener el extracto acuoso y etanólico a partir de las hojas de *Tagetes elliptica* Sm “Chincho”, la elucidación estructural de sus componentes químicos por el método de la Cromatografía de Gases/ Espectrofotómetro de Masas (CG/EM) y determinar la actividad antibacteriana y antifúngica. Asimismo, el uso como condimento aromático y conservador en un alimento andino denominado pachamanca.

Estos resultados contribuyen a la Ciencia de los Alimentos, para mejorar los procesos de elaboración y conservación, brindando una alternativa para el uso adecuado de esta especie vegetal tan preciada por la población peruana.

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1.1 Antecedentes

El género *Tagetes*, perteneciente a la tribu *Tageteae* que contiene 16 géneros, pertenece a la familia de las *Asteraceae*. El nombre de *Tagetes*, originalmente fue aplicado por el filósofo Apuleus (siglo II), ello en honor al bello dios etrusco Tages, en alusión a la hermosura de las flores; nombre que posteriormente fue adoptado por Leonhartus Fuchius en su libro “Historia Stirpium” en el siglo XVI¹. Este género comprende cerca de 60 especies entre ellas la especie botánica en estudio: *Tagetes elliptica* Sm, además de: *T. erecta*, *T. minuta*, *T. pusilla*, *T. lucida*, *T. patula*, y *T. terniflora*, entre las más destacables debido a sus usos como alimento, condimento, en la extracción de pigmentos, en la medicina tradicional y antagonista de nemátodos fitoparásitos^{2,3}.

Tagetes elliptica Sm, conocida como “chíncho”, “chínchu” o “chikchimpa” es consumido como alimento y condimento en ajíes, guisos, asados y pachamancas; y en la medicina tradicional, sus hojas son utilizadas en infusiones, para la dismenorrea⁴.

1.1.2 En el ámbito Internacional

En el año 2004, Felice Senatore y colaboradores demostraron la existencia de actividad antibacteriana del aceite esencial de *Tagetes minuta* (huacatay) contra las bacterias evaluadas, con valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) de 6,25 – 25 µg/mL para bacterias Gram positivas y de 25- 50 µg/mL para bacterias Gram negativas. Asimismo, se reportó que los niveles de dihidrotagetonas, tagetonas, y ocimenonas encontradas en dicha planta podrían tener relación con la actividad antibacteriana observadas. Otros reportes muestran que el extracto de hojas de *Tagetes lucida* presenta actividad contra bacterias Gram positivas⁵. Estudios realizados en etnofarmacología y composición química de los aceites esenciales, están reforzando los conocimientos de sus propiedades de acción antibacteriana y antioxidante⁶.

En un estudio realizado por Tereschuk (2005), los flavonoides mayoritarios del genero *Tagetes* extraídos de hojas y flores de *T. minuta*, *T. pusilla* y *T. terniflora* fueron agliconas como patuletina, quercetina, quercetagetina, isoramnetina. Se trató de esclarecer el mecanismo de acción, como antimicrobiano, del flavonol quercetagetina, una de las agliconas más ampliamente distribuida en el género *Tagetes*, atribuyéndosele una potente actividad inhibitoria frente a todas las enzimas ADN polimerasas α , β y ADN polimerasa I de *E. coli*, así como, frente a la enzima ARN polimerasa. La actividad biológica de los flavonoides fue sugerida por primera vez por el Premio Nóbel Szent-Gyorgyi (1938) quien reportó que los flavonoides de la cáscara de *Citrus* resultaban efectivos en la prevención de la fragilidad capilar y el sangrado asociados con el escorbuto y los llamó “vitamina P”^{7,8}.

Tagetes multiflora Kunth, es una especie vegetal que crece generalmente en zonas andinas, y es conocida como “chinche”, siendo utilizado como alimento y condimento., tiene un aroma característico debido a la presencia de su aceite esencial. También es empleada en el área culinaria para “aromatizar” las comidas, quesos, como aliño o condimento. Como mate se usa en la diarrea de bebé ,dolor de estómago, hinchazón y el zumo se aplica para la curación de las hemorroides⁹⁻¹¹

Generalmente, los aceites esenciales poseen notables propiedades antibacterianas, sin embargo, su mecanismo de acción aún no está definido. Hasta la fecha la mayoría de los estudios realizados sobre las propiedades antibacterianas de los aceites esenciales se han centrado en microorganismos patógenos para el hombre, así como en aquellos presentes en los alimentos, bien por su implicación en toxiinfecciones alimentarias, bien por su capacidad para alterar las propiedades organolépticas y de conservación de los alimentos¹².

1.1.3 En el ámbito Nacional

Segovia I y Suárez L en el 2010, determinaron la composición química de *Tagetes elliptica* Sm, por medio del Espectrofotómetro de masas acoplado a un Cromatógrafo de gases (EM/CG), así como la actividad antibacteriana,

antifúngica y antioxidante del aceite esencial de sus hojas de la especie obtenida de la Provincia de Huaraz, Región Ancash. El cual se obtuvo por el método de destilación por arrastre de vapor de agua; posteriormente fue sometido a un análisis fisicoquímico. Utilizando el método de difusión y dilución en agar se determinó la actividad antibacteriana y la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) respectivamente, frente a los siguientes microorganismos: *S. aureus* ATCC 25933, *S. epidermidis* (cepa clínica), *B. subtilis* (cepa ambiental), *E. coli* (cepa clínica), *P. aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella sp.*(cepa clínica) y *C. albicans* ATCC 10231. De las pruebas realizadas, el aceite esencial mostró actividad antibacteriana frente a 5 cepas bacterianas, mostrándose *Klebsiella* resistente debido a que presentó un halo de inhibición menor de 18 mm; en relación a *Candida albicans* ATCC 10231 en la cual el aceite demostró actividad antifúngica significativa. Respecto a la actividad antioxidante, se realizaron dos pruebas de captación de radicales libres denominadas: Captación del radical difenilpicrilhidrazilo (DPPH) y Captación del radical superóxido producido por Pírogalo; obteniéndose los siguientes resultados: IC₅₀=975µg/mL e IC₅₀= 47,5 µg/mL respectivamente; los cuales no fueron significativos, teniendo en cuenta los patrones de Trolox y Vitamina C respectivamente ²⁰.

1.2 Problema

1.2.1 Problema General

¿Cuál es la composición química, actividad microbiológica y antifúngica del extracto acuoso y etanólico de *Tagetes elliptica* Sm. “Chincho” y su aplicación en un alimento andino?

1.2.2 Problemas específicos

- ❖ ¿Cuál es la composición química, del extracto acuoso y etanólico de *Tagetes elliptica* Sm. “Chincho”?
- ❖ ¿Cuál es la actividad antibacteriana y antifúngica del extracto acuoso y etanólico de *Tagetes elliptica* Sm. “Chincho”?
- ❖ ¿Cómo evaluar la aplicación de las hojas de *Tagetes elliptica* Sm “Chincho” en la preparación de un alimento andino?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Determinar la estructura química, actividad antibacteriana y antifúngica de *Tagetes elliptica* Sm. “Chincho” y su aplicación en un alimento andino.

1.3.2 Objetivos Específicos

- ❖ Elucidar la estructura química de *Tagetes elliptica* Sm. “Chincho”.
- ❖ Determinar la actividad antibacteriana y antifúngica *in vitro* de *Tagetes elliptica* Sm. “Chincho”.
- ❖ Evaluar la aplicación de las hojas de *Tagetes elliptica* Sm. “Chincho” en un alimento andino.

1.4 Justificación

1.4.1 Justificación teórica

Determinar la actividad antibacteriana y antifúngica de la especie vegetal en estudio por representar un aporte a la Ciencia de los Alimentos.

1.4.2 Justificación práctica

Elucidar la composición química, la actividad antibacteriana y antifúngica *in vitro* de *Tagetes elliptica* Sm. “Chincho” y la aplicación en un alimento andino contribuye al mejor uso de las especies vegetales.

1.4.3 Justificación metodológica

Se confirma que la metodología aplicada en el presente trabajo se adecua a los parámetros de la investigación aplicada para el mejoramiento del uso con criterios científicos.

1.4.4 Justificación económica

Actualmente, vivimos el auge gastronómico en el Perú, es pertinente que los investigadores, brindemos resultados científicos que ayuden a mejorar los procedimientos para la elaboración y conservación de alimentos representativos de nuestro país.

1.5 Alcances y Limitaciones

1.5.1 Alcances

Los resultados del presente estudio servirán como precedente para futuros estudios en la Ciencia de los Alimentos, se cuenta con equipos y métodos validados en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para la publicación de artículos científicos.

1.5.2 Limitaciones

Los factores climáticos desfavorables, el hábitat de la especie, lugar de mayor sembrado, tiempo de espera de estación para su óptimo rendimiento, hora en que se realiza la colecta, tipo de extracción acuosa y etanólica para obtener el mayor porcentaje de actividad para el estudio *in vitro* de la actividad antibacteriana y antifúngica, carencia de estudios de este tipo para la comparación, solventes controlados, estudios de estabilidad del alimento andino terminado.

1.6 Variables

1.6.1 Variable independiente

Extracto acuoso y etanólico de las hojas de *Tagetes elliptica* Sm. "Chincho"

1.6.2 Variable dependiente

Composición química, actividad antibacteriana, actividad antifúngica.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Teorías Generales

2.1.1 Clasificación sistemática: Según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988)

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnolopsida*

Subclase: *Asteridae*

Orden: *Asterales*

Familia: *Asteraceae*

Género: *Tagetes*

Especie: *Tagetes elliptica* Sm.

2.1.2 Descripción botánica

Son plantas generalmente herbáceas arbustivas, algunas lianas o árboles, se presentan en todas las regiones del mundo, las hojas son alternas, opuestas o verticales, simples o compuestas, palmipartidas o palmatilobadas. La inflorescencia en forma de capítulo, con muchas flores que se rodean de brácteas cuyo conjunto se llama involucre. Dentro de un mismo capítulo pueden encontrarse flores de forma y sexo diferentes. La flor es hermafrodita o unisexual; el cáliz está constituido por pelos que se denominan papus o vilano, también puede estar formado por escamas; la corola es tubular y su parte superior termina en uno, dos, o cinco labios; el androceo está constituido por cinco estambres de filamentos libres y las antenas formando el tubo estaminal; el ovario es ínfero, unilocular con un solo óvulo, el estilo queda rodeado por el tubo estaminal, el estigma se divide en dos ramas de forma y tamaño variado. El fruto es un aquenio coronado por el papus que le sirve para la dispersión. Las Asteráceas presentan familias numerosas de plantas con flores.³

2.1.3 Antecedentes etnofarmacológicos

La medicina tradicional se presenta como una alternativa frente a los medicamentos sintéticos, es así, que a partir de las plantas medicinales se obtienen los principios activos que se encuentran en las hojas, frutos, tallos y raíces, mediante técnicas de extracción: acuosa, alcohólica, hidroalcohólica; técnicas de destilación o cocción.⁴

Tagetes elliptica Sm. es utilizada en la preparación con ajíes, en los guisos, asados, pachamancas; y en la medicina tradicional, sus hojas son utilizadas en infusiones para la dismenorrea⁴. Asimismo, resultados obtenidos de *Tagetes pusilla*, permitieron validar el uso popular de esta especie como anís serrano y su uso en el tratamiento de las afecciones intestinales del tipo salmonelosis y cólera¹³.

2.2 Actividad antibacteriana

El estudio realizado con el extracto etanólico de las hojas *Tagetes elliptica* Sm. “chincho”, demostró actividad antibacteriana contra *Salmonella typhimurium* con valores de CMI de 3125 µg/mL⁶

2.3 Estudio Fitoquímico

Se han obtenido flavonoides de las hojas y flores de *T. minuta* y *T. terniflora*, que se han identificado como patulina, quercetina, quercetagetina e isoramnetina. También del aceite esencial de *T. elliptica* Sm. se determinó que sus componentes químicos tienen actividad antibacteriana y antioxidante. Estudios realizados de *T. multiflora* reportan la presencia de compuestos mayoritarios como: (z)-tagetona (47%), (E)-ocimenona (17%), (Z)-β-ocimenona (15%) y dihidrotagetona (8%). Asimismo *T. erecta* L. reporta la composición química y la actividad de su aceite esencial¹⁵⁻¹⁷.

En estudios realizados en *T. elliptica* procedente del departamento de Junín- Perú, su aceite esencial reportó componentes químicos con efectos neurofarmacológicos a diferentes dosis en ratones albinos¹⁸.

2.4 Composición química

La composición química de las diversas especies vegetales, no son uniformes sino dependen de factores intrínsecos entre los que están la edad de la planta, la identidad de las variedades, el estado de las hojas y como factores extrínsecos las zonas geográficas, la forma de cultivo y el medio ambiente principalmente.²⁰

2.5 Actividad antibacteriana y antifúngica

Hay estudios que demuestran la actividad antibacteriana y antifúngica del aceite esencial de diversas especies del género *Tagetes*^{19,20}.

La investigación efectuada en el aceite esencial de las hojas de *T. elliptica* Sm “chincho”, presentó actividad antibacteriana significativa frente a *Staphylococcus*

aureus ATCC 25933 con un halo de inhibición de $65 \pm 5,56$ mm y CMI menor de $7,62 \times 10^{-1} \mu\text{g/mL}$ y *Staphylococcus epidermidis* (cepa clínica) con un halo de inhibición de 56 mm, y CMI=97,5 $\mu\text{g/mL}$; asimismo, el aceite esencial presentó actividad antifúngica significativa frente a *Candida albicans* ATCC 10231 con un halo de inhibición de $47,5 \pm 0,71$ mm y CMI 780 $\mu\text{g/mL}$ ²⁰.

2.6 Alimento andino

2.6.1 *Tagetes elliptica* Sm. “chincho” como ingrediente en la pachamanca, potaje andino.

Tagetes elliptica Sm. “chincho” es empleada por su agradable aroma, en potajes locales como la pachamanca y en algunos aderezos. Gran parte de su utilidad proviene de su contenido en aceites esenciales los cuales le brindan el aroma característico.

2.6.2 Pachamanca

La gastronomía peruana ha estado presente desde la época de los incas, estos han realizado y desarrollado diversas técnicas para la conservación y cocción de los alimentos. Se puede afirmar que la pachamanca es parte de la herencia culinaria más representativa de los incas y no sólo es una comida imponente y sabrosa, es todo un rito, un legado cultural cuyo conocimiento se ha heredado de generación en generación²⁸.

Este platillo ancestral de la época incaica, tenía como nombre “huatia” cuyo proceso tenía como objetivo la cocción de alimentos sólidos mediante el contacto de piedras calientes y los ingredientes con los que se llevaba a cabo eran simples. A continuación se expondrá una breve cita sobre la forma de preparación.

“Para hacer la pachamanca se debe escoger un lugar de tierra seca y poco pedregosa. Se debe cavar un hoyo cuya profundidad y extensión dependerá de la cantidad de alimentos que se cocinarán. En la sierra central no se excava más que 20-30 centímetros y la pachamanca se extiende a lo ancho y hacia arriba.” Esta forma de preparar la pachamanca descrita por Olivas surgió en la época incaica y

muestra el ingenio de nuestros antepasados para lograr la cocción de alimentos, la cual se mantiene hasta la actualidad²⁹.

Por otro lado, el significado de la pachamanca es ancestral y divino. Como lo expresa Cecilia Portella, “pachamanca”, que en quechua significa olla de tierra, es una manera de rendir culto a las divinidades del mundo andino y es una forma muy sutil de hacer un pago a la tierra luego de una buena o abundante cosecha. Así mismo, expone que primero los Wari, entre el año 500 y el 1100 D.C y posteriormente los Incas a partir del siglo XIII, honraban la fertilidad del suelo consumiendo lo que habían cosechado cocido en un hoyo excavado en la tierra. Esto se realizaba en medio de celebraciones para incitar al cielo a llover preparando la pachamanca³⁰.

En síntesis, la Pachamanca es una representación gastronómica-cultural que tiene origen en la época incaica. Esta representación se expande a un significado divino debido a que se realizaba como culto a la tierra como símbolo de agradecimiento por su fertilidad luego de una cosecha provechosa y abundante.²⁷

Finalmente, en la actualidad este plato se prepara especialmente para acompañar celebraciones. En la sierra se prepara la pachamanca en festividades religiosas, matrimonios, bautizos, luego de la cosecha, entre otros. Mientras que en la costa, se prepara y se consume sin motivo alguno³¹.

El aporte del uso de *T. elliptica* Sm. “Chincho” en la pachamanca se debe a su agradable aroma.

2.7 Hipótesis

Los componentes químicos del extracto acuoso y etanólico de las hojas de *Tagetes elliptica* Sm. “Chincho” poseen actividad antibacteriana y antifúngica y cómo aplicar las hojas en la preparación de un alimento andino

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1 Materiales

- Matraz de extracción Pyrex
- Probeta Pyrex.
- Pipetas.
- Tubos de ensayo.
- Embudo de decantación Pyrex.
- Pera de bromo Pyrex.
- Beakers capacidad: 50, 100, 200 mL Pyrex.
- Baguetas de vidrio.
- Probeta Florentino.
- Frascos Viales
- Frascos pequeños de color ámbar
- Picnómetro
- Placas Petri estériles de vidrio de 15 mm x 100 mm Pyrex
- Pipetas (1, 2, 5 , 10 y 20mL)
- Soporte universal
- Frasco Erlenmeyer
- Mechero Bunsen
- Pipeta Pasteur
- Frasco para Agar
- Espátula tipo Drigalsky
- Micropipetas (50 μ L, 200 μ L y 1000 μ L)
- Tips de micropipetas

3.1.2 Reactivos

- Alcohol etílico absoluto (Merck Darmstadt).
- Alcohol etílico absoluto grado A.C.S. (Quimex)

- Agar Tripticasa Soya (Merck)
- Agar Mueller - Hinton (Merck)
- Agar Dextrosa al 2 % Sabouraud (Merck)

3.1.3 Material biológico

- *Especie vegetal de hojas frescas de Tagetes elliptica* Sm “Chincho”
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25933
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Escherichia coli* (ATCC 25922)
- *Bacillus subtilis* (ATCC 6633)
- *Candida albicans* (levadura) ATCC 10231

3.1.4 Equipos

- Estufa acoplada a un termómetro digital (Labor Műszeripari Művek (Esztergom), modelo 68-33884.
- Espectrofotómetro (Shimadzu- Modelo UV 2550 a 515 nm).
- Cromatógrafo de Gas/Espectrofotómetro de Masas (CG/EM). Modelo CG: Trace/EM: Trace.
- Balanza analítica (Denver Instrumental Modelo XP-300).
- Refrigeradora Coldex.
- Sistema de destilación al vacío (Rotavapor).
- Licuadora Oster
- Autoclave FRAVILL

3.2 Entidades donde se desarrolló la investigación

La clasificación taxonómica de la especie vegetal se determinó en el Museo de Historia Natural “Javier Prado” de la Universidad Nacional Mayor de san Marcos. El proceso de maceración para la obtención del extracto acuoso y etanólico de las hojas de *Tagetes elliptica* Sm. se desarrolló en el Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Vegetales “Juan de Dios Guevara” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

La determinación de la composición química del extracto etanólico de *Tagetes elliptica* Sm, se realizó en el Laboratorio de Toxicología de la Morgue central

de Lima, así como los ensayos de la actividad antibacteriana y antifúngica se desarrollaron en el Instituto de Investigación en Química Biológica, Microbiología y Biotecnología "Marco Antonio Garrido Malo" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica. Los ensayos para la elaboración y aplicación del extracto acuoso de la especie de estudio en un alimento andino, se realizaron en el Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Vegetales "Juan de Dios Guevara" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

3.3 Tipo de Investigación

El análisis de estudio es de tipo analítico, experimental, observacional, descriptivo y transversal.

3.4 Diseño del trabajo experimental

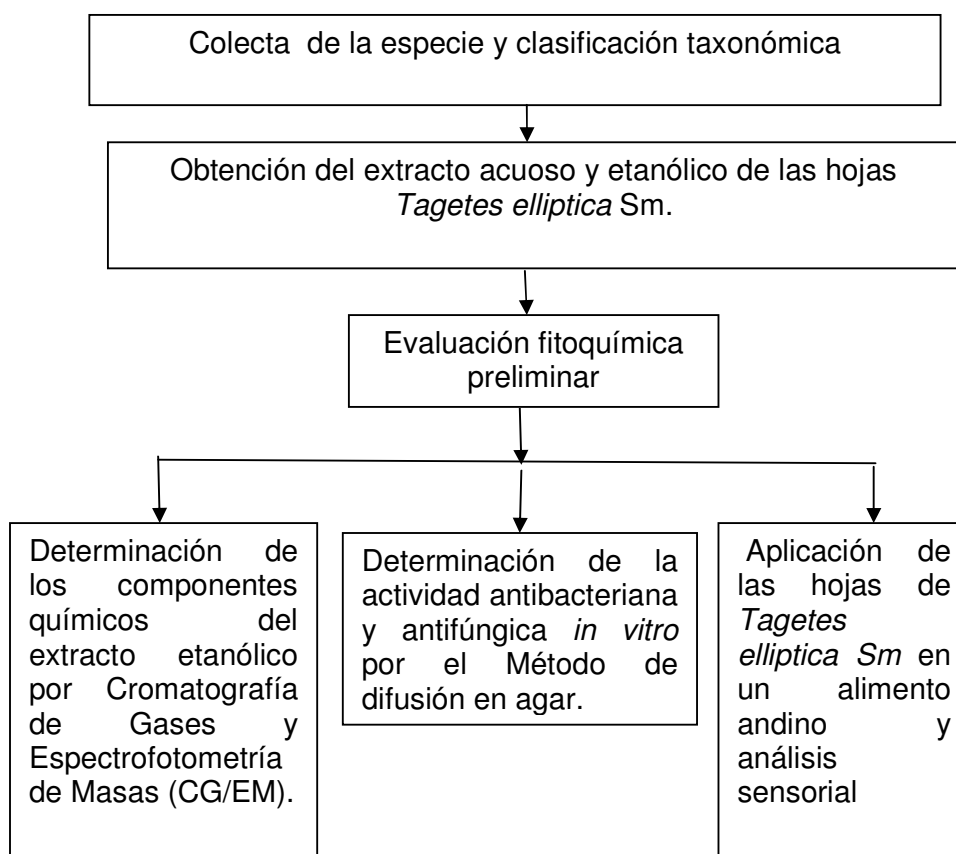


Figura 1. Diagrama de flujo del trabajo experimental

3.4.1 Colecta de la especie vegetal

El material biológico fresco fue colectado en el centro poblado de Molinos provincia de Jauja, Departamento de Junín, a una altitud de 3 500 metros de altitud en el mes de junio de 2012.

3.4.2 Clasificación taxonómica

La identificación botánica de la especie vegetal, se realizó en el Museo de Historia Natural de la UNMSM, Anexo 1.

3.4.3 Estabilización de la Muestra

La especie colectada se acondicionó previamente para proceder a la estabilización de la misma en el Laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos a temperatura ambiente y en sombra durante diez días, se utilizó sólo las hojas y tallos completamente limpios, las que fueron lavadas en agua destilada para eliminar tierra y sustancias extrañas. Anexo 2

3.4.4 Evaluación Fitoquímica preliminar

Se siguió las pruebas fitoquímicas de caracterización según las técnicas de Lock de Ugaz³².

3.4.5 Obtención del extracto acuoso

Se llevó a licuar 1 kg de hojas previamente lavadas y estabilizadas con 1 L de agua destilada, para posteriormente filtrarlo al vacío y obtener así el extracto acuoso; el que fue llevado a temperatura de 40°C hasta sequedad.

3.4.6 Obtención del extracto etanólico

El extracto etanólico se obtuvo empleando 0,5 kg de hojas frescas, previamente lavadas y estabilizadas con 0,5 L de etanol de 96° y se dejó en maceración durante una semana, luego se filtró al vacío.

3.5 Composición química del extracto etanólico de *Tagetes elliptica* Sm.

El análisis estructural por Cromatografía de Gases / Espectrofotometría de Masas (CG/EM), permitió elucidar los componentes químicos del extracto etanólico de las hojas de *Tagetes elliptica* Sm. “chincho”, el que fue analizado por CG/EM, utilizando columna RESTEK RX1® - 5g (Crossbond® 5% difenil 95% dimetilpolysiloxano) de 30 metros de largo. La identificación de los componentes químicos se fundamenta en la comparación con estándares de espectros de masas de las respectivas bibliotecas (MAINLIB, PMWTOX3N, REPLIB)^{33,34}.

3.6 Determinación de la actividad antibacteriana y antifúngica del extracto acuoso y etanólico de *Tagetes elliptica* Sm. *in vitro* por el método de difusión en agar.

Al extracto acuoso de las hojas de *Tagetes elliptica* Sm. se le efectuaron los análisis antibacteriano y antifúngico junto al extracto etanólico de las hojas *in vitro*. En el método de difusión en agar, se usó también el etanol absoluto como solvente.

a. Fundamento

La prueba consistió en enfrentar la bacteria o la levadura integrada previamente en el medio de crecimiento sólido Agar Mueller Hinton o Agar Dextrosa Sabouraud respectivamente versus una muestra del extracto de *Tagetes elliptica* Sm. la cual se expresa en el halo de inhibición producto de la difusión del extracto alcohólico en el medio sólido; hecho que corresponde a la cantidad o concentración del antibiótico⁸.

b. Procedimiento

Se trabajó con los siguientes microorganismos:

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25933
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Bacillus subtilis* ATCC 6633
- *Escherichia coli* ATCC 25922

Levadura

Candida albicans ATCC 10231

c. Preparación de las muestras

Se prepararon las muestras en concentraciones de 100 mg/mL, 50 mg/mL y 25 mg/mL con el extracto acuoso y extracto etanólico de *Tagetes elliptica* Sm.

d. Incorporación de la muestra e incubación del inóculo.

La muestra se colocó en concentraciones de 100 mg/mL, 50 mg/mL y 25 mg/mL en tres placas, luego en el control negativo se colocó 0,1 mL de etanol absoluto; y en el control positivo, para las bacterias se utilizaron discos de oxacilina (1µg/disco), cloranfenicol (30µg/mL), ciprofloxacino (5 µg/mL) y para la levadura se utilizó nistatina (0,2 µg/mL) y ketoconazol (0,2 µg/mL) diluidas en dimetilsulfóxido (DMSO). Después se dejó en reposo por una hora y se llevó a incubación por 24 horas a 35° C para las bacterias y 48 horas a 29°C para *Candida albicans*. Las pruebas se realizaron por triplicado ⁸

e. Lectura de los resultados:

Luego de la incubación, se observó la presencia de halos de inhibición de crecimiento, y se procedió a tomar la medida del diámetro de estos en milímetros. Las placas que presentaron actividad antibacteriana y antifúngica significativa (definida como una zona clara perfecta con un diámetro mayor a 18 mm) posteriormente se sometieron a una nueva evaluación para determinar su Concentración Mínima Inhibitoria.

3.7 Aplicación de las hojas *Tagetes elliptica* Sm. en un alimento andino integrado a la pachamanca, potaje andino.

a. Preparación del potaje andino

Para el presente estudio se eligió la pachamanca a la olla por ser un potaje más utilizado en los hogares peruanos por su rapidez en la preparación y bajo costo.

Se procedió a utilizar las hojas frescas de *Tagetes elliptica* Sm. “chincho”, previamente lavadas, integrándolas en cada capa, según el diámetro del recipiente que lo contiene. Se utilizó una olla de 31 cm de diámetro por 35 cm de alto con tapa hermética, la primera capa fue colocada con papas, se cubrió con pancas de choclo fresco, en la segunda capa se colocaron las ocas , se cubrió con hojas de chincho, nuevamente se cubrió con pancas de choclo, la tercera capa fue cubierta con carne de pollo y chuletas de cerdo previamente sazonadas con ají colorado, mirasol, pimienta, comino, ajos, vinagre y sal, luego se cubrió con hojas de chincho, se agregó choclos frescos cortados en pedazos, nuevamente se cubrió con hojas de chincho, se agregó el jugo de la sazón de las carnes, se cubrió con hojas de panca para luego agregar las habas frescas y limpias, finalmente se cubrió con pancas de choclo se cerró herméticamente la tapa, colocando un peso encima, para una cocción efectiva. Después de 40 minutos se constató la cocción comprobando que las habas están totalmente suaves.

b. Análisis sensorial empírico

Se realizó pruebas de análisis sensorial con un set de panelistas consumidores de 20 personas de 19 a 50 años de ambos sexos utilizando el método de calificación nominal por puntos. Se utilizó la escala de caras para el grado de aceptabilidad: Le gusta mucho, Le gusta un poco, Ni le gusta ni le disgusta, Le disgusta un poco, Le disgusta mucho³⁷.

IV. RESULTADOS

4.1. Ensayo de solubilidad del extracto etanólico

Tabla 1. Prueba de Solubilidad del extracto etanólico de de las hojas *Tagetes elliptica* Sm.

SOLVENTE	MISCIBILIDAD
Etanol absoluto	(+++)
Etanol 50%	(++)
n- hexano	(+++)
Eter etílico	(++++)
Acetato de etilo	(+)
Acetona	(++)
Agua	(-)

Leyenda: Muy Miscible (++++), Miscible (+++), Poco Miscible (++) , Ligeramente miscible (+), Inmiscible (-)

4.2. Ensayo Fitoquímico

Tabla 2. Marcha Fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Tagetes elliptica* Sm.

Reactivo	Metabolitos	Reacción
Cloruro de Fe	Fenoles	(+++)
Shinoda	Flavonoides	(+)
Gelatina	Taninos	(-)
Bortranger	Antraquinonas	(-)
Dragendorff	Alcaloides	(-)
Mayer	Alcaloides	(-)
Bertrand	Alcaloides	(-)

Leyenda: (++) Abundante, (+) Ligeramente abundante, (-) Reacción negativa.

4.3 Elucidación química por Cromatografía de Gas/Espectrometría de Masas (CG/EM).

Tabla 4. Composición química del extracto etanólico de *Tagetes elliptica* Sm. “Chincho” determinado por Cromatografía de Gases / Espectrometría de Masas (CG/EM).

COMPONENTES QUÍMICOS	TIEMPO DE RETENCIÓN (T.R.) (Minutos)
Dianhydrodulcitol	2.10
Ceanothine C	2.68
Resorcinol	2.80
Pirocatecol	2.80
2-(2-butilnil)ciclohexanona	3.80
Z,Z-6,24-tritricontadien-2-ona	6.82
5-hexil-2,4-dimetiloxazol	7.23

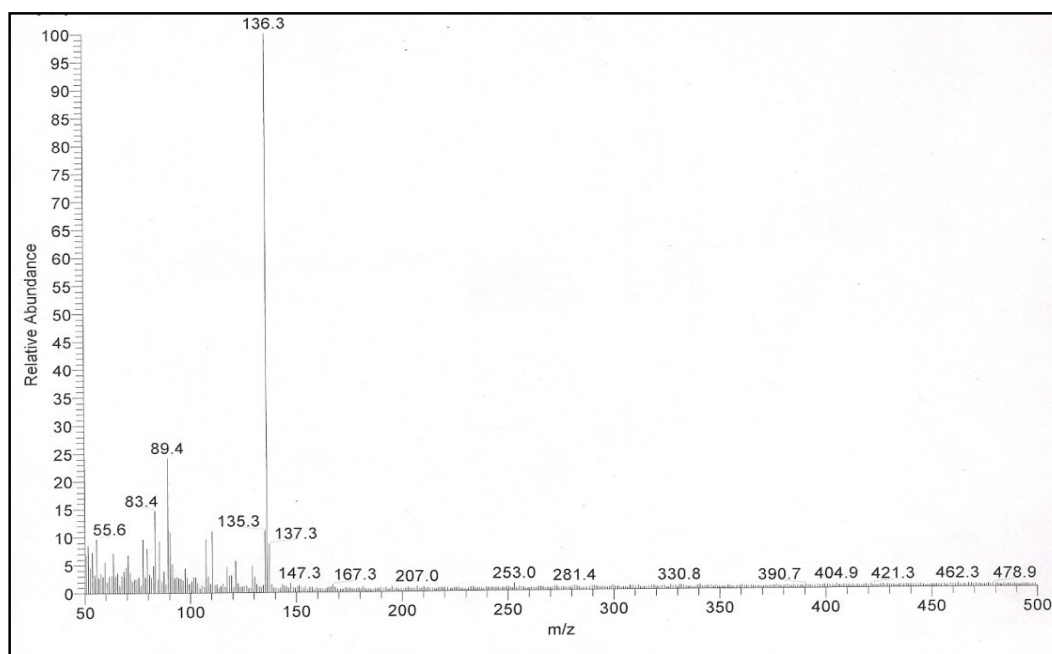


Figura 1. Cromatograma de Gas del aceite esencial de *Tagetes elliptica* Sm.

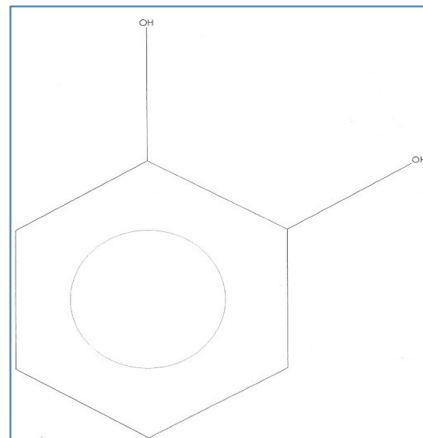
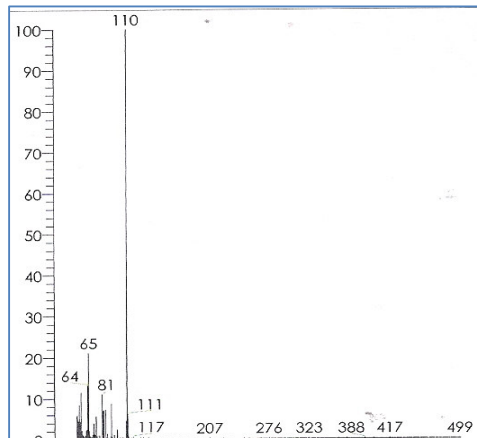


Figura 5. Espectro de la estructura del pirocatecol

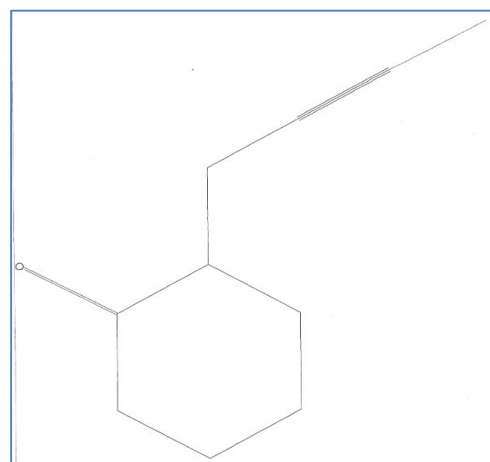
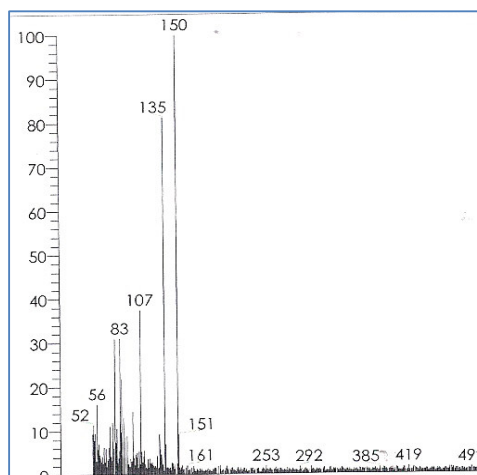


Figura 6. Espectro de la estructura del 2-(2-butiril)ciclohexanona

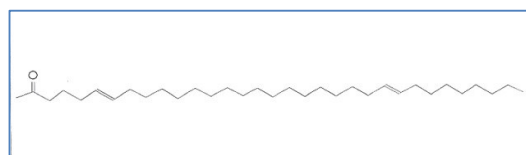
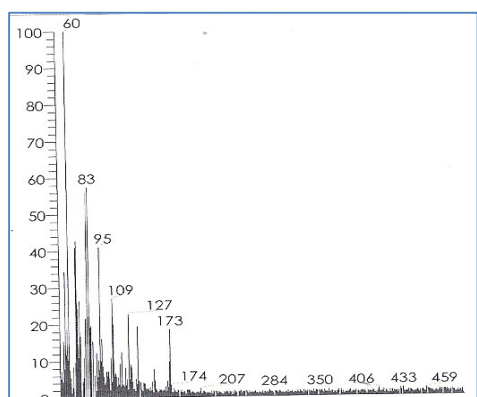


Figura 7. Espectro de la estructura del Z, Z-6,24-tritricontadien-2-ona

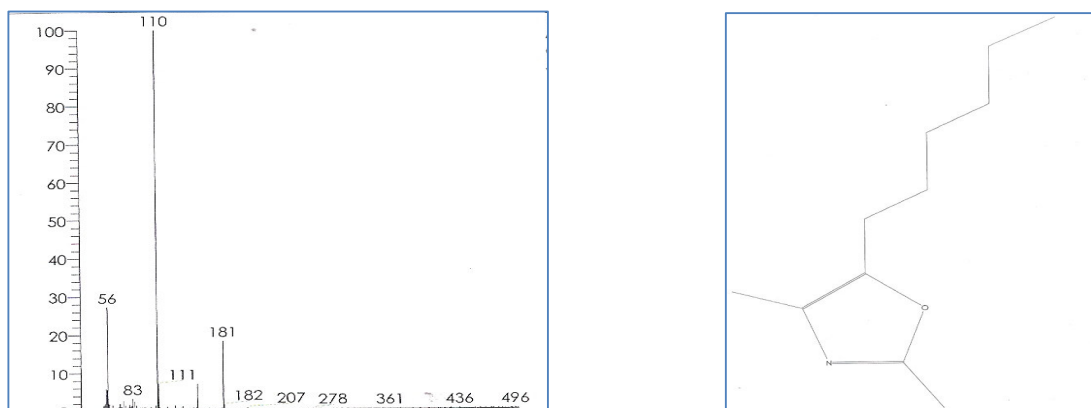


Figura 8. Espectro de la estructura del 5-hexil-2,4-dimetiloxazol

4.4 Determinación de la actividad antibacteriana y antifúngica *in vitro* del extracto acuoso y etanólico de las hojas de *Tagetes elliptica* Sm.

Los resultados obtenidos se clasificaron de acuerdo a las concentraciones utilizadas del extracto etanólico de las hojas de *Tagetes elliptica* Sm.

Tabla 3. Extracto acuoso y etanólico de *Tagetes elliptica* Sm. “chincho”

	Muestras		
	100 mg/mL	50 mg/mL	25 mg/mL
Extracto acuoso	100 µL	50 µL	10 µL
Extracto etanólico	—	50 µL	90 µL
TOTAL	100 µL	100 µL	100

Tabla 4. Formación de halos de inhibición de bacterias Gram positivas y Gram negativas empleando el método de difusión en agar.

Muestra	Conc. mg/mL	Bacterias Gram positivas		Bacterias Gram negativas	
		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25933	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
Extracto acuoso	100	Inactivo	Inactivo	Inactivo	Inactivo
	50	Inactivo	Inactivo	Inactivo	Inactivo
	25	Inactivo	Inactivo	Inactivo	Inactivo
Extracto etanólico	100	16 mm	Inactivo	13 mm	14 mm
	50	15 mm	Inactivo	Inactivo	13,5 mm
	25	14,5 mm	Inactivo	Inactivo	13 m

4.5 Cepas utilizadas:

- ❖ *Staphylococcus aureus* ATCC 25933
- ❖ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- ❖ *Escherichia coli* ATCC 25922
- ❖ *Bacillus subtilis* ATCC 6633

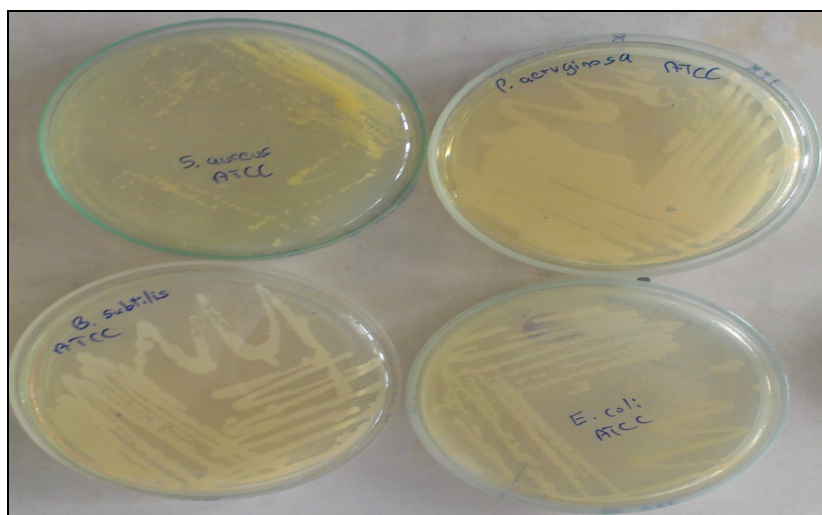


Figura 9. Como solvente se usó alcohol etanólico absoluto, en el método de difusión en agar y se trabajó a concentraciones del 50 mg/mL y 25 mg/mL

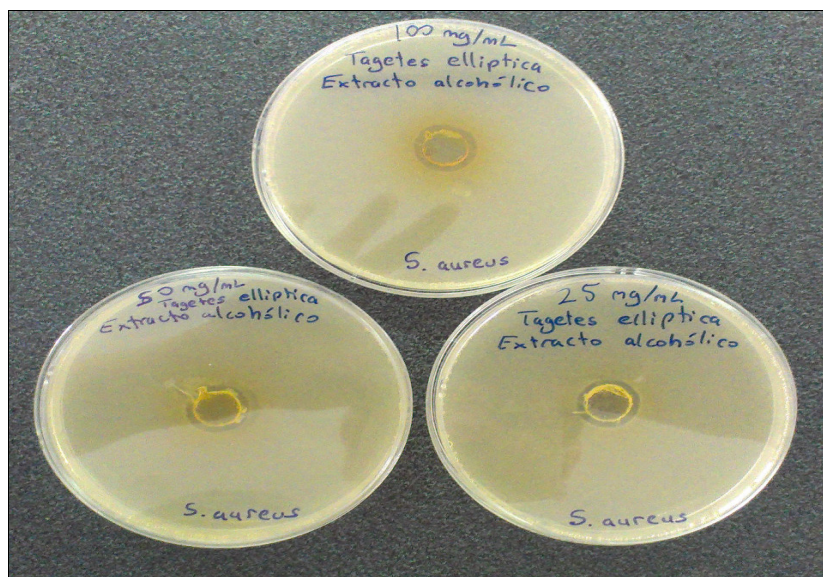


Figura 10. Formación de halos de inhibición frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25933

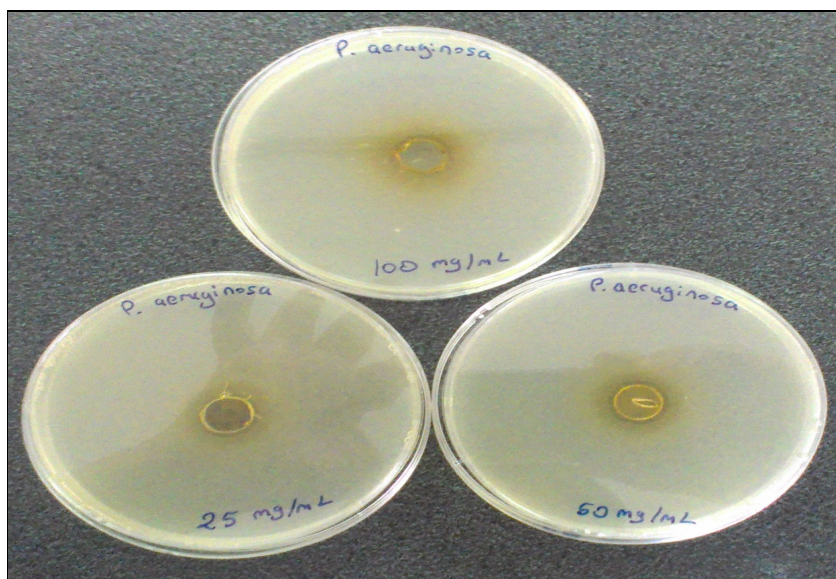


Figura 11. Formación de halos de inhibición frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

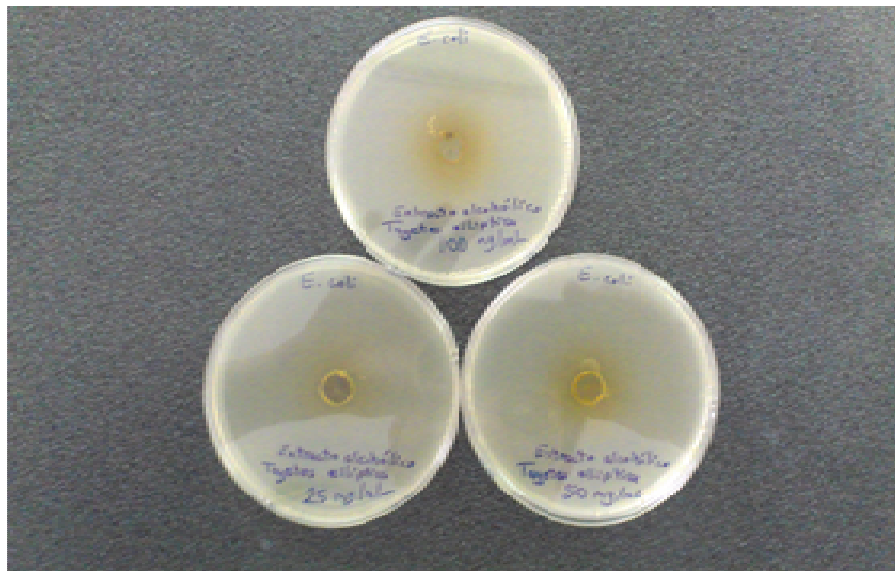


Figura 12. Formación de halos de inhibición frente a *Escherichia coli* ATCC 25922



Figura 13. Formación de halos de inhibición frente a *Bacillus subtilis* ATCC 6633

4.6 Característica del aroma y sabor del alimento andino

Muy acentuado y penetrante antes de la cocción, dejando un sabor agradable que se mezcla con los sabores de la oca semidulce. Las carnes adquirieron un sabor y aroma muy agradable, así como el choclo y las habas.

A temperatura ambiente entre 21° y 22° C durante 24 horas después de la preparación permaneció con los sabores y aromas característicos.

Tabla 5. Grado de aceptabilidad de los Panelistas, a las 24 horas de la preparación

PANELISTAS	CALIFICACIONES	
	OLOR	SABOR
1°	2	3
2°	2	5
3°	3	5
4°	2	5
5°	2	5
6°	3	5
7°	4	5
8°	5	5
9°	3	5
10°	4	5
PROMEDIO	3,0	4,8

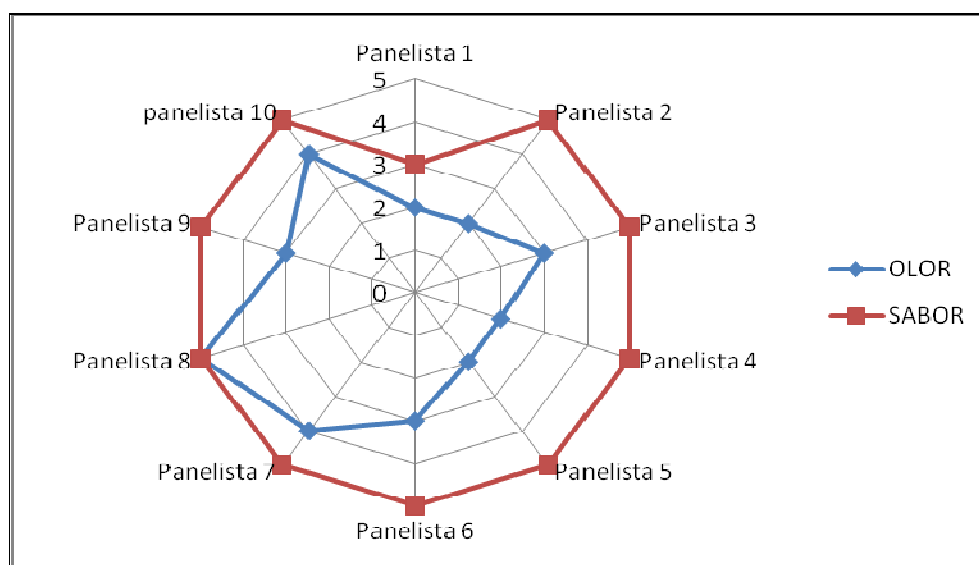


Figura 14. Grado de aceptabilidad de olor y sabor de las hojas de *Tagetes elliptica* Sm. en el alimento andino a las 24 horas de la preparación

Tabla 6. Grado de aceptabilidad de los Panelistas, a las 48 horas de la preparación

PANELISTAS	CALIFICACIONES	
	OLOR	SABOR
1°	4	5
2°	1	3
3°	3	5
4°	3	2
5°	3	5
6°	1	2
7°	1	3
8°	1	3
9°	1	3
10°	1	5
PROMEDIO	1,9	3,6

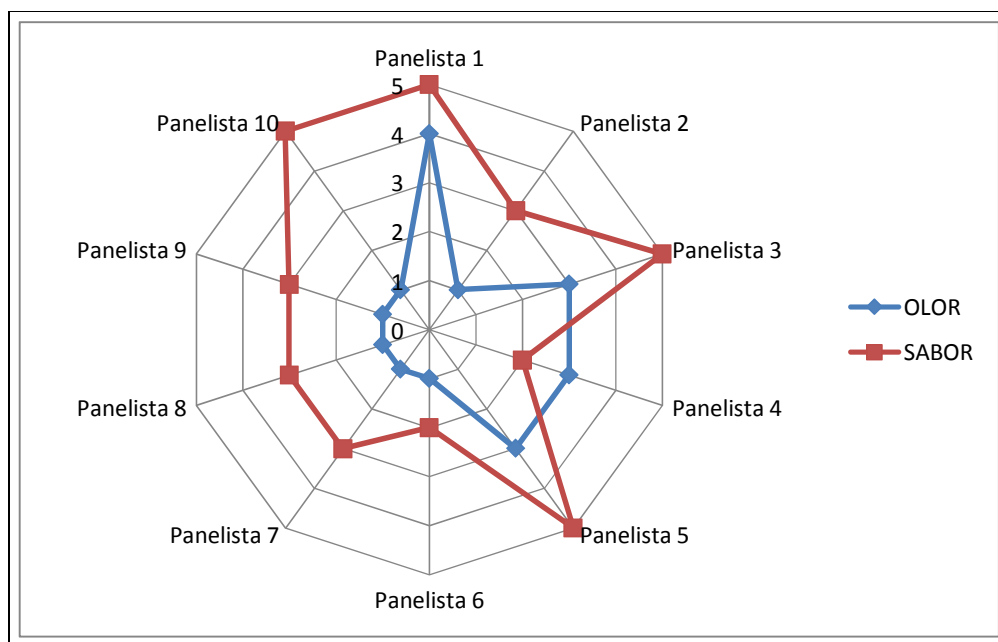


Figura 15. Grado de aceptabilidad de olor y sabor de las hojas de *Tagetes elliptica* Sm. en el alimento andino a las 48 horas de la preparación.

5 DISCUSIÓN

El estudio constituye un aporte a la Ciencia de los Alimentos, básicamente revaloró el uso de los recursos vegetales como parte fundamental de la terapéutica ancestral del alimento de nuestros antepasados, la cultura incaica, para dar paso a la actualidad como parte de la gastronomía peruana que necesita tener bases científicas fundamentadas en la composición química y acción antibacteriana y en la preservación de un alimento tan conocido como es la pachamanca, el tiempo de almacenamiento que se puede tener, y su comercio como alimento preparado para exportación, evitará el uso de aditivos nocivos para la salud.

La medicina tradicional, en los últimos años ha cobrado importancia como una terapia alternativa al uso de medicamentos sintéticos producidos en la industria farmacéutica, destacándose el uso de plantas medicinales, de cuyos extractos se obtienen metabolitos activos de uso medicinal y alimentario³⁸.

En el presente estudio se obtuvo el extracto acuoso y etanólico de las hojas de *Tagetes elliptica* Sm. por el método de maceración por siete días con agitación y posterior filtración para obtener el extracto etanólico, el cual evidenció componentes químicos que fueron elucidados por CG/EM y a los cuales se debería el efecto antibacteriano.

La elucidación estructural determinada por Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (CG/EM), permitió elucidar los componentes químicos: dianhydrodulcitol, ceanothine C, pirocatecol, resorcinol, 2-(2-butilil)ciclohexanona, Z,Z-6,24-tritricontadien-2-ona y 5-hexil-2,4-dimetiloxazol, Estos componentes químicos se destacan por su carácter orgánico funcional de naturaleza fenólica por el resorcinol y pirocatecol, asimismo otros de naturaleza alcohólica y cetónica, presentando también un componente insaturado y un derivado oxazólico. Estos resultados son las características de la serie monoterpénica.

El mecanismo de acción de los polifenoles está vinculado a su capacidad para donar hidrógeno y a su acción quelante con iones metálicos; la potente actividad antioxidante reside en su estructura química con un grupo o-difenólico, un doble enlace conjugado 2-3 y grupos hidroxilos en posiciones 3 y 5, lo que les permite reaccionar con los radicales libres caracterizados de ser inestables, alta energías y de efectos dañinos a las células de nuestro organismo; actuando eficientemente contra los radicales hidroxilo y peroxilo³⁹.

Existen evidencias de que los compuestos polifenólicos constituyen un importante grupo de antioxidantes, ampliamente distribuidos en las frutas y vegetales; comprendiendo a los flavonoides, antraquinonas, cromonas, cumarinas y otros. Pueden aparecer desde simples moléculas fenólicas hasta compuestos muy polimerizados con elevado peso molecular^{40,41}.

Estas investigaciones mencionadas, concuerdan con la composición química que presenta *Tagetes elliptica* Sm. por la presencia de compuestos fenólicos como el resorcinol, pirocatecol hallados en el extracto etanólico y a los que se debería la actividad antibacteriana.

Los compuestos fenólicos están involucrados en la defensa de las plantas contra la invasión de patógenos, incluidos bacterias, hongos y virus.

Los compuestos fenólicos poseen una estructura química ideal para actuar como antioxidante, mostrando una mayor eficacia *in vitro* en comparación a otros compuestos, como la vitamina E y C. Por otro lado, la propiedad de quelar metales, particularmente hierro y cobre, demuestra el rol de los compuestos fenólicos como antioxidantes preventivos en función a que inhiben las reacciones químicas que catalizan estos metales, evitando de esta manera la formación de radicales libres^{42,43}.

Por los resultados obtenidos en la actividad antibacteriana, se ha demostrado que el extracto acuoso de *Tagetes elliptica* Sm. es inactivo a las concentraciones estudiadas de 100, 50 y 25 mg/mL; y el extracto etanólico presenta actividad antibacteriana a la bacteria Gram positiva de *Staphylococcus aureus* ATCC 25933 de 16,15 y 14,5 mm a la concentración de 100,50 y 10 mg/mL respectivamente;

asimismo, actividad antibacteriana a la bacteria Gram negativa de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853. Estudios realizados sobre el aceite esencial y determinación *in vitro* de la actividad de *Tagetes elliptica* Sm. “Chincho” frente a *Cándida albicans*, determinó menor actividad con respecto a la nistatina empleado como estándar.²⁰

Los resultados hallados indican que el extracto etanólico de *Tagetes elliptica* Sm. “Chincho” al contener compuestos fenólicos en su composición química, se debería su efecto antioxidante aportando información sobre esta especie nativa del Perú, y en especial con el creciente interés en los antioxidantes naturales por sus conocidos efectos contra los radicales libres, causantes de problemas de cáncer y enfermedades cardiovasculares, ambas enfermedades causantes de una elevada mortalidad mundial.

Según los resultados obtenidos según la Tabla 5 y 6 después del Análisis Sensorial Empírico, se deduce que los olores y sabores que se desprende del alimento andino recién preparado, el chincho, conserva su características aromáticas propia de sus aceites esenciales, dándole un sabor agradable, como lo manifiestan los panelistas, disminuyendo su olor a las 48 horas, llegando a un 3,6 de aceptabilidad en el sabor, según Tabla 6.

VI. CONCLUSIONES

- En las hojas frescas de *Tagetes elliptica* Sm. se identificaron los siguientes componentes químicos mediante el método de Cromatografía de Gases: Espectrometría de Masas (CG/EM) dianhydrodulcitol, ceanothine c, pirocatecol, resorcinol, 2-(2-butilil)ciclohexanona,; Z,Z-6,24-tritricontadien-2-ona y, 5-hexil-2,4-dimetiloxazol
- El extracto acuoso de *Tagetes elliptica* Sm. “chincho” no mostró actividad antibacteriana frente a las bacterias del estudio, en ninguna de las concentraciones ensayadas.
- El extracto etanólico de *Tagetes elliptica* Sm “chincho” mostró actividad frente a las bacterias Gram positiva *Staphylococcus aureus* y la bacteria Gram negativa *Pseudomonas aeruginosa* en las tres concentraciones trabajadas y no tiene ninguna actividad significativa contra *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*.
- En el uso del alimento andino, las hojas de *Tagetes elliptica* Sm. “chincho” aportaron sabor y aroma.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Thorne R, Reveal J. An updated classification of the class Magnoliopsida ("Angiospermae"). 1era edición. The New York Botanical Garden (Nueva York): Enero: NYBG Press; 2007
2. Ferreyra, R. Flora del Perú: Dicotiledóneas. Lima; 1986.
3. Murga-Gutiérrez SN. Nemátodos Fitoparásitos asociados al cultivo de *Tagetes erecta* en el distrito Virú, La Libertad, Perú. Neotrop helminthol. 2007; 1(1): 15-20
4. Brack E A. Diccionario Enciclopédico plantas medicinales del Perú. Cuzco;1999
5. Senatore F, Napolitano F. Antibacterial activity of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) essential oil with different chemical composition. Flavour Fragr. J. 2004; 19: 574–578
6. Pineda C, Camiloaga E, Zuñiga S. Actividad Antibacteriana del extracto de hojas de Chincho (*Tagetes elliptica* L.) contra *Salmonella typhimurium* en cobayos (*Cavia porcellus* L.). Investigación Valdizana. 2007; 1 (1): 10-13
7. Tereschuk ML. Actividad biológica de flavonoides de Especies de *tagetes* más representativas del noroeste argentino (tesis doctoral). Tucumán: Universidad Nacional de Tucumán; 2005.
8. Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I, Albán J, Lock O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants J Ethnopharmacol. 2003; 88 (2-3): 199–204.
9. Brako L, Zarucchi JL. Catálogo de plantas con flores y gimnospermas del Perú. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.45 Lima.1993
10. Jorgensen PM, León-Yáñez S. Catálogo de Plantas vasculares del Ecuador. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.75 Ecuador.1999
11. Zuloaga FO, Morrone O. catálogo de plantas vasculares de la República de Argentina I. Pteridophyta, gimnospermas y angiosperma (Monocotyledonae), II Dicotyledonae. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.60, 74. 1999
12. Zekaria D. Los Aceites Esenciales, una alternativa de los Antimicrobianos. (Monografía en Internet) Laboratorios Calier; 2007 (Citado el 21 de febrero de 2013) Disponible en:

<http://www.calier.es/pdf/Microsoft Word Aceites esen como promotores.pdf>

13. Alzamora L, Morales L, Armas L. Medicina Tradicional en el Perú: Actividad Antibacteriana *in vitro* de los aceites esenciales. Anales de la Facultad de Medicina. 2001;62(2)-156-61
14. Pichette A, Garneau FX, Collin G, Jean FI, *et al.* *Essential Oils* from Bolivia. IV. Compositae: *Tagetes aff. Maxima Kuntze* and *Tagetes multiflora* H.B.K. Journal of Essential Oil Research: JEOR. Jean/Feb 2005.
15. Soule JA. *Tagetes minuta*: A potencial new herb from South America, In; J Janick and J.E. Simon (eds.), New crops. Wiley, New York. p. 649-54
16. Rao BRR, Kaul PN, Bhattacharya AK, Rajput DK, Et al. Comparative Chemical Composition of Steam-Distilled and Water-soluble Essential Oils of South American (*Tagetes minuta* L.). Journal of Essential Oil Research: JEOR 2006. Nov/Dec.
17. Fuentes Arderiu X, Castiñeiras Lacambra M J, Queraltó Compañó JM. Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Segunda edición; Volumen 1. Barcelona. Editorial Reverté; 1998.
18. Aggarwal KK, Khanuja SPS, Ahmad T, Kumar TRS, Gupta VK, Kumar S. Antimicrobial activity profiles of the two enantiomers of limonene and carvone isolated from the oils of *Mentha spicata* and *Anethum sowa*. Flavour and Fragrance Journal. Volume 17 Issue 1, Pages 59-63; 2002
19. Chattaway FW, Holmes MR, Barlow AJ Cell wall composition of the mycelial and blastospore forms of *Candida albicans*. J Gen Microbiol. 51:367-76; 1968
20. Segovia I, Suarez L. Composición química del aceite esencial de *Tagetes elliptica* Sm "chincho" y determinación de su actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica. Tesis para optar al título profesional de Químico Farmacéutico. UNMSM, Lima, 2010.
21. León ME, Villacorta GM, Pagador FS. Composición química de "oca" (*Oxalis tuberosa*), "arracacha" (*Arracaccia xanthorriza*) y "tarwi" (*Lupinus mutabilis*). Formulación de una mezcla base para productos alimenticios. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Trujillo, 2 (2): 239-52. Julio-Diciembre, 2011
22. NCR. 1989a. National Research Council. Oca. 82-91. In Lost crop of the Incas: little-know plants of the Andes with promise for worldwide cultivation.

23. Del Río, C.A. 1990. Análisis de la variación isoenzimática de "Oca" (*Oxalis tuberosa* Molina) y su distribución geográfica. Tesis. Universidad Ricardo Palma, Perú. 61 p.
24. Montaldo, Alvaro. 1996. Bibliografía venezolana de raíces y tubérculos. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, Universidad Central de Venezuela, Caracas: Miguel Ángel García e Hijo, S. R. L.
25. Barrera, V.; Espinosa, P.; Tapia, C.; Monteros, A. y Valverde, F. 2004. Caracterización de las raíces y los tubérculos andinos en la ecoregión andina del Ecuador (Capítulo 1). En Raíces y tubérculos andinos: alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador. Serie: Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). (pp. 3-30). Nº 4. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias - Centro Internacional de la Papa - Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación. Quito, Ecuador - Lima, Perú.
26. Ayala, G. 2004. Aporte de los cultivos andinos a la nutrición humana (7). En Raíces andinas: contribuciones al conocimiento y a la capacitación. Serie: conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). (pp. 101-112). Nº 6. Universidad Nacional de Cajamarca - Centro Internacional de la Papa - Agencia Suiza para el Desarrollo y Cooperación. Lima, Perú.
27. Cadima-Fuentes, Ximena. 2006. Tubérculos. En Botánica Económica de los Andes Centrales. (pp. 347-369). La Paz, Bolivia: Universidad Mayor de San Andrés.
28. **Hito 1: La Pachamanca** | La Historia de la Gastronomía Peruana. (Consulta 20 de noviembre 2013), disponible:
<http://ghperu.wordpress.com/2010/10/30/hito-1-la-pachamanca/>
29. OLIVAS Rosario (2006) La cocina de los Incas: costumbres gastronómicas y técnicas culinarias. 2 ed. Lima: Universidad San Martín de Porres Gutarra, Valderrama (2004) La pachamanca. Lima: San Martín de Porres.


30. Valderrama Mariano (2010) Historia de la Pachamanca (consulta: 20 de octubre) disponible: (<http://www.yachay.com/especiales/gastronomia/pachamanca.htm>)
31. Portela Cecilia (2005) La pachamanca: delo terrenal a lo divino. (Consulta: 20 de octubre) disponible: (<http://www.generaccion.com/secciones/gastronomia/pdfs/Generaccion-Edicion-70-gastronomia-56.pdf>)
32. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica. Métodos en estudios de productos naturales. 2^a Edición. Lima. Fondo Editorial PUCP, 1994:8 -10.
33. Edmond de Hoffmann and Vincent Stroobant. Mass Spectrometry. Third Edition. London, John Wiley & Sons, Ltd, 2007:217-32.
34. Ekman R *et al.* Mass Spectrometry: Instrumentation, Interpretation and Applications. New Jersey. John Wiley & Sons, 2009:121-7.
35. Kalemba D, Kunicka A. Antibacterial and Antifungal properties of Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry*. 2003; 10:813-29.
36. Gamazo C, López-Goñil, Díaz R. Manual Práctico de Microbiología. Tercera edición. Barcelona; Masson S. A. 2005.
37. ITF. Institute of Food Technologists. The Society for Food Science and Technology. Washington D.C. 1981.
38. Dominguez X. Métodos de Investigación Fitoquímica. 3ra Edición. Editorial Linus S.A. México DF; 1985
39. Bravo I. Polyfenols. Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutr. Rev*, 56: 317-33
40. Van Acquire SA, Van den Berg DJ, Tromp MN, Griffioen DH, Van Bennekom WP, Vander Vijgh WJ, *et al.* 1966. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radic. Biol Med*; 20:331-42.
41. Groot H de, Rawen U. 1998. Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundam Clin Pharmacol*; 3:249-55.
42. Loyola N, Calquín P, Norambuena R. Evaluación de parámetros físicos, microbiológicos y sensoriales de radicchios (*chichorium intybus* L. var. *foliosum*) envasados mediante IV gama IDESIA (Chile) Vol. 25, N° 3; 59-73, 2007. [En línea] (Revisado el 11-04-2011). Disponible en: www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=lng...

43. Shiva RC. Estudio de la Actividad Antibacteriana de Extractos Naturales y Ácidos orgánicos. Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento (tesis doctoral). Barcelona; Universitat Autònoma de Barcelona; 2007.


VIII. ANEXOS

ANEXO 1

8.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Integración Nacional y el Reconocimiento de Nuestra Biodiversidad"

CONSTANCIA N°. 215-USM-2012

LA JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (Planta completa), recibida de **Julio DÍAZ URIBE**, de la Facultad Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: **Tagetes elíptica Sm.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLOPSIDA

SUB CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: ASTERALES


FAMILIA: ASTERACEAE

GENERO: Tagetes

ESPECIE: Tagetes elíptica Sm.

Nombre vulgar: "Chincho".
Determinado por: Mario J. Benavente Palacios.
Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 20 de agosto de 2012



Dra. BETTY MILLÁN SALAZAR
JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av.Arenales 1256, Jesús María

Telfs. (511)471-0117, 470-4471,
470-7010, 410-7000 - fax 470-5703

e-mail: museohn@unmsm.edu.pe
http://museohn.unmsm.edu.pe

ANEXO 2

8.2 Colección de la especie vegetal

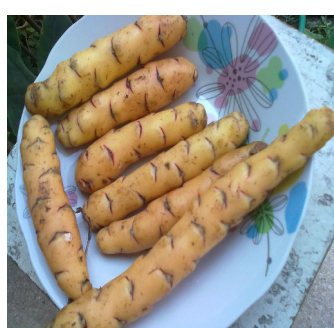


8.2.1 Extracto



ANEXO 3

8.3 Pasos para la elaboración de Pachamanca a la olla con las hojas de *Tagetes elliptica* Sm “Chincho”



ANEXO 4

8.4 Potaje andino “Pachamanca a la olla”



ANEXO 5
8,5 ANÁLISIS SENSORIAL EMPÍRICO

Nombre:.....

Sexo: F () M ()

Edad:.....

Alimento andino:.....

Fecha:.....

Hora:.....

Por favor proceda a degustar el alimento andino e indique su nivel de agrado en cuanto a los atributos de acuerdo a la siguiente tabla:

SABOR

Le gusta mucho 5

Le gusta 4

Ni le gusta ni le disgusta 3

Le disgusta un poco 2

Le disgusta mucho 1

SABOR

ALIMENTO ANDINO	CALIFICACIÓN

OLOR

Extremadamente intenso 5

Muy intenso 4

Moderadamente intenso 3

Ligeramente intenso 2

Trazas 1

ALIMENTO ANDINO	CALIFICACIÓN

Comentarios y Observaciones.....

Muchas gracias por su valiosa colaboración.